

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI RESIDU EKSTRAK  
ETANOL BUAH CEREMAI (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*  
MULTIRESISTEN ANTIBIOTIK**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**PRASETYO ADI LAKSONO  
K100 060 152**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2010**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis, seperti Indonesia karena keadaan yang berdebu dan temperatur yang hangat dan lembab sehingga mendukung mikroba untuk tumbuh subur (Gibson, 1996).

*Staphylococcus aureus* merupakan penyebab penting penyakit infeksi. Dalam keadaan normal *S. aureus* terdapat di dalam saluran pernafasan atas, kulit, saluran cerna dan vagina. *S. aureus* dapat menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Warsa, 1993).

*Escherichia coli* menyebabkan penyakit diare, terutama pada anak-anak di negara berkembang. Selain itu juga dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi baru lahir serta infeksi luka dalam (Josodiwondo dkk., 1994). Penyakit lain yang ditimbulkan adalah sepsis yang terjadi setelah infeksi sistem saluran kencing (Jawetz *et al.*, 2001).

Dewasa ini banyak bakteri penyebab infeksi telah resisten terhadap antibiotik. Hal ini disebabkan karena secara alamiah bakteri resisten terhadap antibiotik, penghentian antibiotik sebelum penyakit sembuh, dan pemberian dosis dibawah dosis yang diberikan. Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik memerlukan produk baru yang memiliki

potensi tinggi. Penelitian zat yang berkhasiat sebagai antibakteri perlu dilakukan untuk menemukan produk antimikroba yang berpotensi untuk menghambat atau membunuh bakteri yang resisten antibiotik dengan harga yang terjangkau. Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam tanaman obat (Widjayanti, 1999).

Salah satu tanaman obat yang telah diteliti sebagai antibakteri yaitu ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah ceremai mengandung senyawa polifenol dan saponin. Berdasarkan mekanisme senyawa polifenol dan saponin yang bekerja dengan mendenaturasi sel dan merusak membran sel bakteri maka senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Erwiyani, 2009).

Tanaman ceremai telah terbukti mempunyai khasiat hepatoprotektif (Lee *et al*, 2006), antibakteri dan antijamur (Melendez dan Capriles, 2006; Satish *et al*, 2007; Jagessar *et al*, 2008). Penelitian Jagessar *et al* (2008) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun ceremai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambatan 11 mm<sup>2</sup> untuk *Escherichia coli* dan 20 mm<sup>2</sup> untuk *Staphylococcus aureus*. Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol buah ceremai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan KBM sebesar 0,5% b/v dan terhadap *E. coli* mempunyai KBM sebesar 1% b/v (Erwiyani, 2009). Berdasarkan penelitian tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri terhadap fraksi residu dari ekstrak etanol buah ceremai

(*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli* multiresisten antibiotik.

### **B. Perumusan masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeel) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang multiresisten antibiotik?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeel)?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Menentukan aktivitas antibakteri fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeel) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang multiresisten antibiotik.
2. Menentukan golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeel).

### **D. Tinjauan Pustaka**

#### **1. Tanaman ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels)**

- a. Klasifikasi dari tanaman ceremai sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Phyllanthus</i>
Jenis	: <i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels (Hutapea, 1991)

**b. Khasiat**

Daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) berkhasiat untuk urus-urus dan obat mual. Akar ceremai digunakan untuk obat asma dan daun muda untuk obat sariawan (Hutapea, 1991). Daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* (Jagessar *et al.*, 2008).

**c. Kandungan kimia**

Buah dan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung saponin dan polifenol (Erwiyani, 2009). Buah dan daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) mengandung adenosine, kaempferol (flavonoid), dan hypogallic acid (DHBA) (Sousa *et al.*, 2007).

d. Sifat : Berbau khas aromatik, tidak berasa (Dalimarta, 2002).

**2. Metode Penyarian**

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik jika

permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Anonim, 1989).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 2000).

Metode dasar penyarian ada beberapa yaitu maserasi, perkolasi dan soxhletasi. Pemilihan dalam metode penyarian tersebut sebaiknya disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh sari yang baik (Anonim, 1986).

Istilah *maceration* berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya "merendam". Maserasi yaitu proses penyarian dengan cara merendam simplisia dalam penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Serbuk simplisia yang akan disari ditempatkan pada wadah bejana bermulut besar, ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°- 20°C dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan larut dalam penyari (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan metode penyarian yang sangat sederhana dan paling banyak digunakan untuk menyari bahan obat yang berupa serbuk simplisia yang halus. Remaserasi merupakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Anonim, 2000).

### 3. Bakteri

Bakteri merupakan organisme bersel tunggal yang berkembang biak dengan pembelahan menjadi dua sel. Bakteri dibagi menjadi kelas-kelas menurut bentuknya yaitu kokus (berbentuk bulat), basil (batang lurus), kokobasil (bentuk antara kokus dan basil), vibrio (batang lempeng), dan spiroceta (spiral) (Gibson, 1996). Perbedaan bentuk dari bakteri yang membedakan kekerasan dinding selnya (Levinson, 2004). Bakteri dibagi atas bakteri Gram positif dan Gram negatif tergantung pada responsnya bila diwarnai dengan pewarnaan kuman menurut Gram (Assani, 1994).

#### a. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryota

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Species : *Staphylococcus aureus* (Capuccino, 2001)

*Staphylococcus* merupakan sel Gram positif berbentuk bola dengan diameter 1  $\mu\text{m}$  yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur seperti anggur. Kokus tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair (Brooks *et al*, 2008).

*Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Antigen ini merupakan kompleks peptidoglikan asam teikhoat dan dapat menghambat fagositosis dan bagian ini yang diserang bakteriofaga. *Staphylococcus* bersifat lisogenik, yaitu mengandung faga yang tidak berpengaruh pada dirinya sendiri, tetapi menyebabkan lisis pada anggota dari spesies sama (Warsa, 1993).

*Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan dan melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler, seperti katalase, koagulase, enzim lain, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, toksin sindroma syok toksik, dan enterotoksin (Jawetz *et al.*, 2001).

*Staphylococcus aureus* merupakan kuman patogen yang bersifat invasif, penyebab hemolisis, membentuk koagulase, mencairkan gelatin, membentuk pigmen kuning emas (Warsa, 1993). *Staphylococcus* mempunyai ciri peradangan setempat, nekrosis, dan pembentukan abses. Pada penyebaran ke bagian tubuh lain melewati pembuluh getah bening dan pembuluh darah (Warsa, 1993).

#### **b. *Escherichia coli***

Klasifikasi *Escherichia coli* :

Kingdom : Procaryota

Divisio : Gracilicutes

Class : Scotobacteria

Ordo : Eubacteriales

Family : Entobacteriaceae



Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Brooks *et al.*, 2008)

*Escherichia coli* berbentuk batang pendek (kokobasil), Gram negatif, ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , sebagian besar gerak positif, dan beberapa strain mempunyai kapsul. *E. coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi. *E. coli* bersifat mikroaerofilik (Karsinah *et al.*, 1994). *E. coli* bersifat aerob dan juga fakultatif anaerob serta dapat memfermentasi laktosa. Beberapa strain *E. coli* menghasilkan hemolisis agar darah (Jawetz *et al.*, 2001).

*E. coli* merupakan kuman oportunistis (Karsinah *et al.*, 1994). *E. coli* banyak ditemukan dalam usus besar manusia, menyebar ke vagina dan uretra. *E. coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, misalnya diare terutama pada bayi dan anak-anak serta infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus (Karsinah *et al.*, 1994). Strain *E. coli* yang menyebabkan diare mempunyai pili sebagai media untuk melekat pada epitel intestin (Jawetz *et al.*, 2001). *E. coli* merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Beberapa strain menghasilkan enterotoksin, karena sifat gen yang dibawa dalam plasmid (Brooks *et al.*, 2008).

#### **4. Antibakteri**

##### **a. Mekanisme kerja antibakteri**

Target antibakteri adalah sebagai berikut:

##### **1) Dinding sel**

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di

bawahnya (Jawetz *et al.*, 2001). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini diantaranya adalah penisilin (Pelczar dan Chan, 1988).

#### 2) Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1988).

#### 3) Molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga sel dapat diperbaiki lagi. Salah satu antimikrobia kimiawi yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat dan persenyawaan fenolat (Pelczar dan Chan, 1988).

#### 4) Enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambat ini banyak mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Sulfonamid merupakan zat kemoterapeutik sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA (asam *p*-aminobenzoat) di dalam reaksi, karena molekul PABA dan

sulfonamid hampir sama, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan koenzim esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin, dengan demikian karena tidak adanya koenzim, maka aktivitas seluler yang normal akan terganggu (Pelczar dan Chan, 1988).

#### 5) Asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1988).

#### **b. Uji aktivitas antibakteri**

Pengujian terhadap aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu :

##### 1) Agar difusi

Metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:

##### a) Cara Kirby Bauer

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam pada 37°C, suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri  $10^8$  CFU per ml. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung supaya kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri diletakkan di atasnya, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam (Anonim, 1993).

Hasilnya dibaca :

- i. *Radical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- ii. *Irradical zone* yaitu suatu daerah di sekitar *disk* dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri, tetapi tidak dimatikan (Anonim, 1993).

b) Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasi 5-8 jam 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Mc. Farland ( $10^8$  CFU/mL). Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung supaya kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran ditetaskan larutan antibakteri, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti cara Kirby Bauer (Anonim, 1993).

c) Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasikan 5-8 jam 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri  $10^8$  CFU per ml. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai suhu 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen, dituang pada media agar Mueller Hinton, ditunggu sampai agar tersebut membeku dan disk diletakkan di atas media dan

dieramkan selama 15-20 jam dengan temperatur 37°C. Hasil dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Anonim, 1993).

## 2) Dilusi Cair/Dilusi Padat

Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri. Pada dilusi cair, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut Kadar Hambat Minimal (KHM). Sedangkan pada dilusi padat ditunjukkan dengan tidak terlihatnya pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri disebut Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Anonim, 1994).

## 5. Antibiotik

Antibakteri adalah substansi yang mampu menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Antibiotik adalah suatu substansi kimia (disebut juga agen kemoterapi) yang termasuk kelompok senyawa antibakteri yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme. (Anonim, 1994).

Mekanisme kerja sebagian besar obat antimikroba ataupun antibiotik dapat dibagi menjadi empat cara:

- a. Penghambatan sintesis dinding sel
- b. Penghambatan fungsi selaput sel
- c. Penghambatan sintesis protein (hambatan translasi dan transkripsi bahan genetik)
- d. Penghambatan sintesis asam nukleat (Jawetz *et al.*, 2001)

Resistensi sel mikroba ialah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh anti mikroba. Sifat ini merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup (Setiabudy dan Gan, 1995). Mekanisme tersebut dapat dibagi menjadi lima macam, antara lain:

- a. Menghasilkan enzim yang merusak obat aktif
- b. Mengubah permeabilitasnya terhadap obat
- c. Mengembangkan sasaran struktur yang diubah terhadap obat
- d. Mengembangkan jalur metabolisme lain yang memintas reaksi yang dihambat oleh obat
- e. Membentuk suatu enzim yang telah mengalami perubahan tetapi enzim tersebut masih dapat menjalankan fungsi metabolismenya serta tidak begitu dipengaruhi oleh obat seperti enzim pada bakteri yang peka (Jawetz *et al.*, 2001).

Resistensi dibagi dalam tiga kelompok, yaitu kelompok resistensi genetik, resistensi non genetik, dan resistensi silang.

#### 1) Resistensi non genetik

Bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivitas metabolik) biasanya tidak dipengaruhi oleh antimikroba. Bila berubah menjadi aktif kembali, mikroba

kembali bersifat sensitif terhadap antimikroba. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi non genetik (Setiabudy dan Gan, 1995).

## 2) Resistensi genetik

Terjadinya resistensi kuman terhadap antibiotik umumnya terjadi karena perubahan genetik. Perubahan genetik bisa terjadi secara kromosomal dan ekstra kromosomal.

### a. Resistensi kromosomal

Ini terjadi akibat mutasi spontan pada lokus yang mengendalikan kepekaan terhadap obat antimikroba yang diberikan.

### b. Resistensi ekstrakromosomal (resistensi dipindahkan)

Bakteri sering mengandung unsur-unsur genetik ekstrakromosom yang dinamakan plasmid. Bahan genetik dan plasmid tersebut dapat dipindahkan melalui mekanisme transduksi, transformasi, konjugasi, dan translokasi DNA (Jawetz *et al.*, 2001).

### c. Resistensi silang

Mikroorganisme yang resisten terhadap suatu obat tertentu dapat pula resisten terhadap obat-obat lain yang memiliki mekanisme kerja yang sama (Jawetz *et al.*, 2001), atau dengan struktur kimia yang hampir sama (Setiabudy dan Gan, 1995).

## 6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok.

Campuran yang akan dipisahkan berupa bercak atau pita dan pemisahan terjadi selama perambatan (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl, 1985).

Pemilihan fase gerak baik tunggal maupun campuran tergantung pada solut yang dianalisis dan fase diam yang digunakan. Bila fase diam telah ditentukan maka memilih fase gerak dapat berpedoman pada kekuatan elusi fase gerak tersebut (Sumarno, 2001).

Pada kromatogram kromatografi lapis tipis dikenal istilah atau pengertian faktor retardasi, (Rf) oleh tiap-tiap noda kromatogram yang didefinisikan sebagai:

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi komponen}}{\text{jarak migrasi fase motil}} = \frac{dR}{dM}$$

(Mulya dan Suharman, 1995)

### E. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini diharapkan didapatkan data mengenai aktivitas antibakteri fraksi residu ekstrak etanol buah ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* multiresisten antibiotik.